

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 5 7 7 号	学位授与年月日	平成 22 年 3 月 15 日
氏 名	相 良 大 輔		
論文題目	Trans-serosal leakage of proinflammatory mediators into a bowel bag during abdominal aortic aneurysm repair: Role of phospholipase A2 in activating leukocytes (腹部大動脈瘤手術中の腸バッグへの炎症性メディエーターの経漿膜的漏出: 好中球を活性化させるホスホリパーゼ A2 の役割)		

博士(医学) 相 良 大 輔

論文題目

Trans-serosal leakage of proinflammatory mediators into a bowel bag during abdominal aortic aneurysm repair: Role of phospholipase A₂ in activating leukocytes

(腹部大動脈瘤手術中の腸バッグへの炎症性メディエーターの経漿膜的漏出: 好中球を活性化させるホスホリパーゼ A₂ の役割)

論文の内容の要旨

[はじめに]

腸管由来の炎症性メディエーターが全身循環へ入り遠隔臓器障害、多臓器不全を引き起こす経路として、門脈、腸管リンパ管の二つの経路が提唱されている。我々はこれまで動物モデルを用いて第三の経路として経腹膜経路が存在することを報告してきたが、本研究では臨床症例における炎症性メディエーターの経腹膜経路の存在を明らかにすることを目的とした。

[材料と方法]

浜松医科大学医の倫理委員会の承認と、すべての患者からのインフォームド・コンセントを得た。2007年5月から2009年9月までに浜松医科大学第二外科、血管外科で腹部大動脈瘤の待機的人工血管置換術を行った患者のうち15症例を2群に分けた。15症例のうち、グループ I (n=10)は術中、小腸をプラスチックバッグに収納し血行再建終了時にバッグ内に貯留した腸管浸出液を用い、グループ II (n=5)は術中、小腸をスポンジガーゼにより圧排し血行再建終了時に腹腔内に留置したガーゼが吸収した腹腔内浸出液を用い、それぞれの好中球活性化能について検討した。また、コントロール群として、15症例の手術開始時の腹腔内洗浄生食水を用いた。好中球活性化能は、各群で得られた浸出液および腹腔内洗浄生食水を術後2ヶ月後に採取した末梢血好中球に反応させ、好中球の偽足様突起形成率と、好中球膜表面の接着分子 CD11b の発現を flow cytometry により分析し、それぞれ3群間で比較検討した。

また、腸管由来炎症性メディエーターを同定するために、tumour necrosis factor- α (TNF- α)、インターロイキン-1 β (IL-1 β)、インターロイキン-6 (IL-6)、インターロイキン-8 (IL-8)、エンドトキシン、分泌性ホスホリパーゼ A₂ (sPL A₂)を定量し、比較検討した。さらに、ホスホリパーゼ A₂ 阻害剤である quinacrine をグループ I の腸管浸出液に投与し、好中球活性化能を分析した。

グループ I (n=10)とグループ II (n=5)の患者背景は、年齢、腹部大動脈瘤の最大径、性別、手術時間、大動脈遮断時間、出血量、腹水貯留量について検討した。

すべてのデータは mean \pm SD で示し、2群間の比較には t 検定を用いた。3群間の比較および quinacrine の好中球活性化能に対する効果の分析には、対応のある一元配置分散分析(ANOVA)を用い、その後 Scheffe の方法により多重比較をした。すべての統計解析は、StatView 5.0 を用いて行った。

[結果]

グループ I (n=10)とグループ II (n=5)の患者背景の比較では、手術時間、大動脈遮断時間、出血量がいずれもグループ II で有意に高い数値を示し、グループ II の手術侵襲の程度がより高かった(t 検定、P<0.05)。

好中球活性化能を示す末梢血好中球の偽足様突起形成率はグループ I $56.5 \pm 13.5 \%$ 、グループ II $10.0 \pm 2.0 \%$ 、コントロール群 $1.6 \pm 0.9 \%$ ($P < 0.01$ vs コントロール群) であり、flow cytometry で測定した CD11b 抗体の平均蛍光強度はグループ I 104.9 ± 28.6 、グループ II 66.5 ± 23.0 、コントロール群 31.2 ± 8.5 ($P < 0.01$ vs コントロール群) であり、ともにグループ I で有意に好中球活性化能が高かった。また、IL-6、IL-8、エンドトキシン、sPL A₂ の濃度はいずれもグループ I、グループ II、コントロール群の順で高値であった。一方、TNF- α 、IL-1 β の濃度はグループ I、グループ II の両群で差を認めなかった。さらに、グループ I の腸管浸出液による偽足様突起形成率、接着分子 CD11b の発現は quinacrine により用量依存性に抑制された (10^{-6} M ~ 10^{-4} M)。

[考察]

腹部大動脈瘤手術時に小腸をプラスチックバッグで収納した際に貯留する腸管浸出液、ならびにガーゼが吸収した腹腔内浸出液は、ともにコントロールと比較して有意に高い好中球活性化能を有していた。プラスチックバッグ内に貯留した腸管浸出液がより高い好中球活性化能を有していたことから、好中球活性化能を有する炎症性メディエーターの漏出が経漿膜的に起こることが確認され、これまでの動物モデルを用いた基礎実験の結果と同様に、臨床症例においても経漿膜的なメディエーターの伝搬経路が存在することが判明した。

さらに、腸管浸出液中の炎症性メディエーターとしては IL-6、IL-8、エンドトキシン、sPL A₂ のいずれもがコントロールと比べ有意に増加していた。また、ホスホリパーゼ A₂ 阻害剤である quinacrine によって腸管浸出液による末梢血好中球の偽足様突起形成率、接着分子 CD11b の発現が、ともに用量依存性に抑制されたことから、これらのメディエーターの中で sPL A₂ が腸管浸出液中の好中球活性化能を有するメディエーターとして重要であることが判明した。

グループ II はグループ I と比べて、手術侵襲の程度が高かったと考えられるにもかかわらず、グループ I の浸出液における好中球活性化能が有意に高く、sPL A₂ も有意に高かった。このことは、腹部大動脈瘤手術における小腸プラスチックバッグの使用が、何らかの機序で腸管の経漿膜的な炎症性メディエーターの漏出を惹起していると考えられ、小腸バッグを使用しない手術術式との比較の上でも、興味深い知見と考えられた。

[結論]

腹部大動脈瘤手術中には、経漿膜的な腸管由来の炎症性メディエーターの漏出が起こり、その炎症性メディエーターの中で最も好中球活性化に影響を及ぼすのは sPL A₂ であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究の目的は、腸管由来の漏出液中に種々の炎症性メディエーターが存在し、好中球活性化能に富んでいることを明らかにすることである。腹部大動脈瘤の待機的手術 15 例を対象に、術中、小腸をプラスチックバッグに収納したもの (Gr.1)、および、小腸を腹腔内に置いたもの (Gr.2) の 2 群に分け、それぞれの漏出液について比較検討を行った結果、両群共に末梢血好中球活性化能および炎症性メディエーターは高値であった。しかし、Gr.1 の漏出液における接着分子 CD11b の発現および分泌性ホスホリパーゼ A₂ (sPLA₂) 濃度は、Gr.2 より有意に高く、さらに、Gr.1

の漏出液は、PLA₂ 阻害剤 (quinacrine) により好中球活性化能が抑制された。以上から、sPLA₂ が、好中球活性化の主因であることを明らかにし、併せて、小腸プラスチックバッグの弊害を強調した。

審査会では、対象の無作為選択の方法、末梢血好中球の偽足様突起測定に関するバイアスの有無、各患者の好中球を使用した理由、手術終了時の小腸の肉眼的所見とくに静脈うっ血の程度、Gr.2 において炎症性メディエーターが希釈された可能性、sPLA₂ が腸管内から漿膜外へ逸脱するメカニズム、プラスチックバッグ内の漏出液が炎症性メディエーターに富んでいた理由、腸間膜リンパ節の関与の可能性、quinacrine の作用機序などを質問し、これに対し、申請者から概ね適切な解答が得られた。過大な手術侵襲後の多臓器障害症候群には、腸管由来の漏出液に含まれる炎症性メディエーターが影響している可能性を示唆した新知見を高く評価し、今後、本研究を発展させ、腹膜経路で血中に spill over する病態の解明を要望した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	青木 克憲		
	副査	浦野 哲盟	副査	椎谷 紀彦